Zur Biologie der Torfmoororchidee *Liparis Loeselii* Rich.[1]

Von

Bruno Huber

Aus dem Botanischen Institut der Universität Innsbruck und dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität in Wien. Nr. 157 der zweiten Folge.

(Mit 1 Tafel)

(Vorgelegt in der Sitzung am 7. Juli 1921)

I. Einleitung.

Schon um die Mitte des vorigen Jahrhunderts haben die morphologischen Eigentümlichkeiten unserer einheimischen Malaxiden die Aufmerksamkeit der Botaniker erregt.[2] Gab doch der Besitz von Sproßknollen Anlaß zum Vergleich mit den tropischen Orchideen. Dazu kamen noch die eigentümlichen Netzverdickungen in den absterbenden Blättern und der Grundachse, die die Behauptung aufkommen ließen, die Malaxiden besäßen ein Velamen radicum. Goebel hat dann[3] diese Angabe auf den wahren Sachverhalt geprüft und für diese eigentümlichen Gewebe eine der Bedeutung des Velamen ähnliche Aufgabe dargetan. In dieser Arbeit findet sich auch eine kurze Angabe über die Verpilzung der Malaxiden, die einzige in der botanischen Literatur, die kurz das Wesentliche kennzeichnet:

»Die Sproßachsen der Malaxiden sind regelmäßig und in ausgedehntem Maße von Pilzen bewohnt; sie finden sich in den peripherischen Geweben außerhalb des von den Gefäßbündeln

---

[1] Zur Frage der Nomenklatur vgl. Ascherson P., Synopsis der mitteleuropäischen Flora, III, p. 900.

[2] Irmisch Th., Bot. Ztg. 1847, p. 137, Flora 1854, p. 625, 1863, p. 1. Zur Morphologie der monokotylischen Knollen- und Zwiebelgewächse, Berlin 1850, p. 159.

[3] Goebel K., Morpholog. und biolog. Bemerkungen. 9. Zur Biologie der Malaxiden, Flora *88* (1901), p. 94.

durchzogenen Zentralzylinders. In den inneren Zellschichten des Rindengewebes bilden die Pilzhyphen dichte Knäuel. Diese Zellen führen keine Stärkekörner, während in den äußeren Rindenzellen, die wenige oder keine Pilzhyphen aufweisen, große Stärkekörner abgelagert sind. Man findet in der Sproßachse auch die »Klumpen«, die nach W. Magnus als verdaute Pilzhyphenknäuel zu betrachten sind... Die Zellen der Wurzelrinde sind auffallend inhaltsarm, so daß man von einer »endotrophen Mykorrhiza« hier kaum sprechen kann. Zwar lassen sich Pilzhyphen von den Wurzelhaaren aus durch die Wurzelrinde bis an ihre Innengrenze verfolgen, aber sie treten in verhältnismäßig geringer Menge auf und bilden nirgends die dichten Knäuel, die in den Wurzeln der anderen Orchideen auftreten«.

Seither ist diese durch ihren Standort auffallende Orchideengruppe auf ihre Verpilzung nicht mehr untersucht worden. Und doch birgt die Mykorrkizenfrage noch so viele Rätsel, daß jede neue Teiluntersuchung einen Baustein liefern kann, bis dann schließlich auf Grund zahlreicher Einzelergebnisse die volle Deutung möglich sein wird. Und vielleicht darf man gerade zur meist umstrittenen Frage nach der Bedeutung des Pilzes für die Stickstoffversorgung bei den eigenartigen Hochmoororchideen eine ausgesprochenere Anpassung erwarten, die wieder einen Fingerzeig zur Deutung der ganzen Frage geben könnte. Sieht doch Burgeff[1] gerade darin, daß sich die Orchideen im allgemeinen die stickstoffarmen Hochmoore nicht erobert haben, einen wichtigen Wahrscheinlichkeitsbeweis gegen die Annahme, daß der Pilz atmosphärischen Stickstoff assimiliere oder hochmolekulare Stickstoffverbindungen auszunutzen verstehe. Gerade die Malaxiden kommen aber auf Torfmooren in engster Gesellschaft mit *Drosera* vor,[2] die im Insektenfang ihren Stickstoffbedarf zu decken vermag und man ist geneigt, den Burgeff'schen Schluß umkehrend, für die Pilze dieser Malaxiden einen Stickstoffgewinn zu fordern.

Daß diese bemerkenswerten Pflanzen trotzdem noch keine Untersucher gefunden haben, ist wohl auf ihre Seltenheit zurückzuführen. Das Viller Moor bei Innsbruck (842 *m* über dem Meeresspiegel) ist nun ein ergiebiger Standort für *Liparis Loeselii*[3] und so entschloß ich mich im Frühjahr 1920, an dieser Pflanze meine Studien zu beginnen. Sie waren naturgemäß in zwei Richtungen

---

[1] Burgeff H., Die Wurzelpilze der Orchideen, ihre Kultur und ihr Leben in der Pflanze, Jena 1909, p. 197: »Auf den an löslichen Stickstoffverbindungen ärmsten Standorten, den Hochmooren, finden wir keine Orchideen, mit Ausnahme zweier, in ihrer Mykorrhiza gänzlich unbekannter, eben nur hier vorkommender Gattungen, die sich schon durch ihre systematische Stellung wesentlich unterscheiden, *Malaxis* und *Microstylis*. Hier auf den Hochmooren war ein Gebiet, das sich die verpilzte Familie hätte erobern können, wenn die Mykorrhiza ihı einen bedeutenden Gewinn an Stickstoff garantiert hätte. Fänden wir sie hier, dann wäre auch der Frank'sche Vergleich mit den Infektivoren berechtigt, die hier vorkommen.

[2] Nach Hegi's Illust. Flora von Mitteleuropa, Bd. II, 20. Lieferung, p. 393 ff. kommt *Malaxis paludosa* fast ausschließlich, *Liparis Loeselii* vorwiegend auf Hochmooren, aber auch auf Flachmooren (so am Innsbrucker Standort) vor. *Microstylis* ist eine Pflanze moosiger Voralpenwiesen und -wälder, findet sich aber auch in Torfstichen.

[3] Habitusbild in G. Karsten und H. Schenk »Vegetationsbilder«, 4. Reihe, -. Heft. Taf. 48.

zu führen: einerseits war die Entwicklungsgeschichte der Verpilzung in der Pflanze in möglichst geschlossener Folge zu studieren, anderseits sollte der Pilz in Reinkulturen auf seine Ernährungsansprüche untersucht, die nach den bisherigen Erfahrungen wenig aussichtsreiche Samenkeimung auf Reinkulturen des Pilzes versucht und die Pflanze selbst in den Grundzügen ihrer Ernährung, wenn möglich auch an pilzfreien Exemplaren geprüft werden.

Die Untersuchungen wurden zuerst am Botanischen Institut der Universität Innsbruck, seit Dezember 1920 am Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien ausgeführt. Den Vorständen der genannten Institute, meinen hochverehrten Lehrern, den Herrn Hofrat Heinricher und Hofrat Molisch danke ich für die zuvorkommende Beistellung der Hilfsmittel und für ihre ständige rege Anteilnahme an meinen Untersuchungen. Für die Einführung in die bakteriologische Technik bin ich Herrn Prof. Sperlich zu besonderem Dank verpflichtet. Den Herrn Assistenten danke ich für ihr vielfaches Entgegenkommen und manchen wertvollen Wink.

II. Herkunft der Pflanzen.

Sehr bald nach Beginn meiner Untersuchungen wurde die Abtorfung des Viller Moors beschlossen und unverzüglich in Angriff genommen. Es galt daher, für meine Untersuchungen hinreichend lebendes Material zu sichern. Das Viller Moor[1] ist ein Wiesenmoor und liegt 842 *m* über dem Meeresspiegel in jener Talmulde, die von Igels-Vill über den Lansersee gegen Hall ins Inntal zieht und die Fortsetzung des Stubaitales bildete, bis der Silldurchbruch jenen äußersten Teil von seinem Zufluß abschnitt. Seen, Tümpel und Moore weisen den Weg des alten Tals und seines Gletschers. Das Moor besitzt keinen Zufluß und trocknet im Spätsommer oberflächlich aus. An den Rändern herrscht die typische reiche Flora der Wiesenmoore, gegen die Mitte wird sie ärmer. Hier sitzt *Liparis Loeselii* mit Grundachse und Wurzeln in Laubmoospolstern eingebettet, die nach unten absterbend, allmählich in Torf übergehen. In unmittelbarer Gesellschaft finden sich *Drosera rotundifolia* und *longifolia*. Einige Zentimeter unter dem Boden zieht ein dichtes Geflecht von Wurzeln und Rhizomen, besonders von *Phragmites*. Unter den Sauergräsern überwiegt *Schoenus ferrugineus*, dessen Rasen im Frühjahr vor dem Emporschießen des jährlich abgemähten Schilfrohrs dem ganzen Moor das Gepräge geben. Ich entnahm etwa 150 Pflanzen mit einer 8 *cm* tiefen Bodenschicht dem Standort und pflanzte sie in flache, glasierte Töpfe ohne Bodenloch, so daß bei reichlichem Begießen stets stehende Bodennässe vorhanden war. Vom Spätsommer bis ins erste Frühjahr wurde dann trockener gehalten. Die Pflanzen erhielten sich ausgezeichnet. Im September stirbt die Pflanze ab und überwintert nur mit der von toten Blattscheiden umhüllten Sproßknolle und der ihr anliegenden Knospe. In diesem Zustand ist *Liparis* gegen Trockenheit ausgezeichnet geschützt und verträgt vollkommenes Austrocknen des Bodens. Mitte März wurde wieder reichlicher begossen und Mitte April trieben alle Knospen neuerdings aus und gediehen prächtig. Aber nur drei Pflanzen kamen am 15. Mai zur Blüte, obwohl alle Pflanzen einen Blütenstand angelegt hatten. Das »Ausbleiben« der Malaxiden wird auch in allen Florawerken angegeben.

---

[1] Vgl. Murr J. Die Lanserköpfe bei Innsbruck und ihre Umgebung. Deutsche Bot. Monatsschrift XIX (1901), p. 152 bis 154.

III. Anatomisch-entwicklungsgeschichtlicher Teil.

Längsschnitte durch die Pflanze zeigen das in Fig. 1 dargestellte Bild. *Liparis* wächst wie die meisten Orchideen sympodial. Man findet im Juni deutlich erhalten die Reste der vorjährigen Pflanze, den Zentralzylinder der Grundachse (a_1), während die Rindenzellen ziemlich vollkommen verwest sind, die Sproßknolle k_1 umgeben von den Resten der abgestorbenen Blätter mit den von Goebel (a. a. O.) beschriebenen Netzverdickungen und schließlich den Fruchtstiel, der manchmal noch die Fruchtkapseln trägt und mit dem das Wachstum des Hauptsprosses sein Ende nahm. Das Wachstum wurde von der Achselknospe des obersten Laubblattes fortgesetzt, aus der dadurch die heurige Pflanze hervorgegangen ist. Wir finden eine nahezu senkrecht aufsteigende Grundachse, die ziemlich zahlreiche Wurzeln trägt, von denen eine an der Seite der alten Achse senkrecht nach abwärts dringt, während die übrigen, die Blattreste durchbohrend, seitlich in den Boden gelangen, dann die Blätter (meist 3 Niederblätter und 2 Laubblätter) und über dem obersten Laubblatt wiederum eine Anschwellung des Stengels, die junge Sproßknolle (k_2), die sich in den Blüten tragenden Stengel fortsetzt. Ihr seitlich angedrückt findet sich die Anlage der nächstjährigen Pflanze.[1] In der Grundachse fällt namentlich an Alkoholmaterial schon mit freiem Auge eine milchweiße Zone auf, die als Hohlzylinder den Zentralzylinder umschließt, es ist die Zone der Verpilzung (in Fig. 1 dunkel getont). Besonders gut ist ihre Ausdehnung an Querschnitten zu verfolgen (Fig. 2). Etwa von der dritten Zellschicht unter der Epidermis angefangen bis nahe an die Gefäßbündel sind alle Zellen der stark entwickelten Rinde mit Pilzknäueln gefüllt. In den Wurzeln ist dagegen keine ausgebreitete Verpilzung bemerkbar. Von der Achsenrinde aus setzen sich die Hyphenknäuel noch ein kleines Stück in die Wurzelrinde fort und in der nächsten Nähe der Wurzelaustrittstelle sind zahlreiche Wurzelhaare von Hyphen durchzogen, die sich in der Epidermis wenig ausbreiten und sich dann bis ins Pilzgewebe der Achse verfolgen lassen. Es liegen hier offenbar nur die Ein- und Austrittsstellen des Pilzes vor. Schon etwa $^1/_2$ *cm* von ihrer Durchbruchstelle ist die Wurzel vollkommen pilzfrei.

Untersucht man dann im September oder Oktober zarte Längsschnitte durch die Anlage der nächstjährigen Pflanze, so findet man (vgl. Goebel a. a. O., p. 98, Fig. 3) zwar alle morphologischen Einzelheiten, Grundachse, Blätter, junge Knolle, Blütenstiel mit Blüten und einige Wurzeln schon angelegt, die ganze Anlage ist aber pilzfrei. Das Rindenparenchym der jungen Achse enthält in

---

[1] In der Regel ist die Tochterknolle in rechtem Winkel zur Mutterknolle orientiert, so daß man auf einem Schnitt durch alte Knolle und heurige Pflanze nicht auch die junge Knospe trifft.

allen Zellen reichlich Stärkekörner. Da sich die Verpilzung in der diesjährigen Achse, die schon im Absterben ist, nicht weiter ausgebreitet hat und sich zwischen Grundachse und Knolle eine Trennungsschicht gebildet hat, so ist es offenbar, daß kein Überwandern des Pilzes in die junge Pflanze stattfindet, sondern eine Neuinfektion von außen stattfinden muß. Schon Mollberg erwähnt (Untersuchungen über die Pilze in den Wurzeln der Orchideen. Jenaer Zeitschrift, XVII, 1884), daß er bei den von ihm untersuchten Ophrydeen mit verpilztem Rhizom nie das Hinüberwachsen des Pilzes aus dem alten in das neue Rhizom beobachten konnte und daß daher eine Neuinfektion anzunehmen sei. Diese Neuinfektion bleibt nun bei *Liparis* keineswegs der zufälligen Anwesenheit des Pilzes überlassen, sondern ist durch eine sehr eigentümliche Einrichtung sichergestellt. Als ich Mitte April 1921[1] Pflänzchen untersuchte, die eben die Knospenspitze aus der Umhüllung der Knolle hervorschoben, waren sie äußerlich noch wurzellos. Bei näherem Zusehen zeigte es sich aber, daß die bei Goebel in Fig. 3 in ihrer Anlage sichtbare, senkrecht nach abwärts gerichtete Wurzel ausgetrieben hatte und ins Rindengewebe der vorjährigen Grundachse eingedrungen war, in dem sich neben verdauten Pilzklumpen auch noch lebende Hyphen erhalten hatten. Der Pilz dringt sofort durch die Wurzelhaare in die Wurzel ein und erreicht durch diese die junge Achse, in der er nun nach und nach aufwärts dringt, wobei die Stärke aus den Rindenzellen verschwindet. Erst später dringen weitere Wurzeln, die Blattbasen durchbohrend, seitlich nach außen.

Es ist bemerkenswert, daß Irmisch schon 1854 an *Malaxis paludosa* dasselbe Eindringen der Wurzel in die Rinde der Mutterachse beobachtete,[2] ohne natürlich die biologische Bedeutung ahnen zu können. Es ist dies nämlich um so bemerkenswerter, als *Malaxis* sich in den Spiralfaserzellen der Blätter und der Achse eine Wasserabsorptionsvorrichtung geschaffen hat, die zum Verlust aller übrigen Wurzeln geführt hat. Nur diese eine Wurzel wird beibehalten, weil sie die Neuinfektion vermitteln muß.

Noch eine zweite Tatsache läßt die Infektion gesichert erscheinen. Die Blattbasen, die die junge Knolle umschließen, sind schon im lebenden Zustand regelmäßig, wenn auch meist nicht in ausgedehntem Maße von den Hyphen des Orchideenpilzes durchzogen, der auch hier durch Rhizoiden Eingang findet. Die Verpilzung der Blattbasen ist schon Goebel aufgefallen (a. a. O., p. 100):

---

[1] Die Infektionsgeschichte wurde 1921 an meinen Kulturexemplaren verfolgt, die den Pflanzen des natürlichen Standorts in der Entwicklung um 2 bis 3 Wochen voraus gewesen sein dürften.

[2] Th. Irmisch, Bemerkungen über *Malaxis paludosa* Sw., Flora 1854, p. 625: »Äußerlich war nichts von einer Wurzel zu bemerken, doch überzeugte mich eine neuerliche Untersuchung, daß sie durchwegs eine solche besaßen. Sie befindet sich ganz unten an der Basis des diesjährigen Blütenstengels, senkt sich aber gleich vertikal nach unten und wächst ins Parenchym der schlanken Achse hinein, die sich unterhalb der vom vorigen Jahr stehen gebliebenen Knolle findet und die vorjährigen Blätter trug.«

»Die Blätter der Malaxiden weisen an der Basis Wurzelhaare auf. Die Gegenwart der Wurzelhaare spricht sich auch darin aus, daß ganz ebenso wie in den Wurzeln selbst durch sie eine Pilzinfektion erfolgt. Auch hier kann man die Pilzhyphen, freilich nur in geringer Zahl, in die tiefer liegenden Zellschichten verfolgen. Sie treten hier zuweilen in ziemlich dichten Knäueln auf.« Aber auch der Raum zwischen den Blattbasen ist von Pilzhyphen übersponnen. Vom August angefangen findet man hier reichlich jene Sporenketten, die von der Kultur des freien Pilzes allgemein bekannt sind. Selbst das oberste Blatt, dessen Grund als feines, eng angepreßtes Häutchen schützend die Knolle mit der jungen Knospe umschließt und am Übergang in den Fruchtstiel einen eigentümlichen Kragen bildet (vgl. Goebel, p. 101), ist in dieser Weise von sporulierenden Hyphen übersponnen. Seltener kann man diese Sporenbildung auch im Innern von Epidermiszellen feststellen. Man kann von diesen kugeligen Sporen (Fig. 3) wegen der vollkommenen Übereinstimmung mit denen der Kulturen (vgl. Fig. 4 *a* und *b*) und wegen des Auftretens gleicher Bildungen in der Wurzelepidermis (Fig. 5), wo der Zusammenhang mit dem Pilzgewebe der Achse deutlich nachweisbar ist, die Zugehörigkeit zum Orchideenpilz mit voller Sicherheit behaupten. Daneben findet man dann allerdings, besonders nach dem Absterben, verschiedene andere Mikroorganismen (Diatomeen, Pilze usw.)

Aus dieser Beobachtung geht hervor, daß der Pilz nur Bruchteile von Millimetern von der jungen Knospe entfernt in Dauerzuständen vorhanden ist, so daß selbst beim Versagen der zuerst erwähnten Infektionseinrichtung die seitwärts die Blätter durchbrechenden Adventivwurzeln den Pilz aufnehmen müssen.

Im Mai hat dann der Pilz die anfangs angegebene Verbreitung erlangt. Die Stärkekörner, die in der jungen Anlage in allen Rindenzellen der Achse reichlich vorhanden waren, sind aus den verpilzten Zellen bis auf wenige Überbleibsel verschwunden. Dagegen ist die Stärke um die Gefäßbündel und in den beiden subepidermalen Zellschichten unversehrt erhalten. In den Epidermiszellen selbst finden sich nur um den Kern gedrängt Stärkekörner. Die Kerne, die vor der Infektion in allen Rindenzellen ungefähr gleich groß waren, haben sich in den verpilzten und einigen angrenzenden Zellen bedeutend vergrößert. Ihr Durchmesser hat sich ungefähr verdoppelt. Von einer Differenzierung in Wirt- und Verdauungszellen ist nichts zu bemerken, alle Zellen führen den lebenden Pilz, der auch vollkommen lebenskräftig ist, wie aus der mühelos gelingenden Isolierung auf Kulturböden geschlossen werden darf. Alle Hyphen sind gleichartig, kurz nach der Infektion ziemlich kräftig. Eine Sonderung in Ring- und Haustorialhyphen wie bei Neottia[1] fehlt. Wenn man in seltenen Fällen um einen

---

[1] W. Magnus: Studien an der endotrophen Mikorhizza von *Neottia nidus-avis* Jahrb. f. w. Bot., 35 Bd. (1900).

Knäuel zarterer Hyphen einen Ring von kräftigen findet, so sind diese auf eine Neuinfektion zurückzuführen, während jene schon Verfallsstadien darstellen. Auch Eiweißhyphen fehlen.

Mit dem Substrat besitzt der Pilz reichliche Verbindungen. *Liparis* trägt ja nicht nur an den Wurzeln sehr zahlreiche Wurzelhaare, sondern auch viele Epidermiszellen der Achse und Blattbasen wachsen zu Rhizoiden aus, die in die wasserspeichernden Blattreste eindringen. Wie diese Organe dem Pilz den Eintritt in die Pflanze erschlossen, so sind sie nun in weit reichlicherem Maße die Stellen, durch die er mit dem Boden in Verbindung tritt. In den Wurzeln findet ein Ausstrahlen nur in den basalen Teilen statt, der größere Teil der Wurzel ist vollkommen pilzfrei.

Die austretenden Rhizoiden bilden in der Basis des Rhizoids lockere Knäuel und Schlingen und verlassen, sich nach außen verzweigend und mehrfach anostomosierend, das Haar. Sporenketten findet man in den Rhizoiden nur ausnahmsweise, dagegen treten sie sehr häufig in den Epidermiszellen der Wurzel auf (Fig. 5) und zwar meist in gebräunten, toten Zellen.[1]

Wie erwähnt, sind im Juni alle verpilzten Zellen gleichartig Der große Kern liegt zunächst sehr chromatinarm in der Mitte des dichten Hyphenknäuels, nur der gut färbbare Nukleolus ermöglicht es, ihn ziemlich regelmäßig zu finden (Fig. 6). Bald aber treten reichlich Chromatinkörnchen und -ballen auf, so daß der Kern nun scharf hervortritt. Die Kernmembran ist sehr deutlich, ein Aussenden von Plasmafortsätzen ist nur selten zu bemerken (Fig. 7).

Dieses typische Bild zeigen in der zweiten Junihälfte fast alle Kerne des Pilzgewebes. Später deformieren sich die Kerne, so treten längliche oder gelappte Kerne auf, die nun die Wand erreicht haben oder dem Hyphenknäuel angedrückt liegen.

Im Laufe des Juli beginnen dann die Hyphen zu kollabieren, die Pilzknäuel füllen daher die Zellen nicht mehr so prall, sondern heben sich von der Wand ab. Dieser Vorgang schreitet im August rasch weiter fort, so daß Anfang September die Hyphen in vielen Zellen zu ziemlich festen Klumpen geballt erscheinen.

Teilweise kann man allerdings die einzelnen Hyphen noch gut erkennen. Man findet dann regellos nebeneinander alle Übergänge von verhältnismäßig wenig kollabierten Hyphenknäueln über dicht geballte, stark kollabierte Reste bis zu fast homogenen Klumpen. Die Kerne sind inzwischen wieder erheblich kleiner geworden, die regen Stoffwechselvorgänge sind abgeklungen, der Kern der höheren Pflanze hat gesiegt.

Während dieser Vorgänge der Grundachse und wohl auf Grund der Nährstoffzuschübe, die die Pflanze beim Absterben des Pilzes erhält, vollendet *Liparis* in den oberirdischen Teilen ihre Entwicklung. Anfangs September welken rasch die Blätter, deren Chlorophyll schon seit einiger Zeit allmählich degeneriert war; in

---

[1] Bei den übrigen Orchideen wurden solche Sporenketten nur in den Wurzelhaaren der Ophrydeen ziemlich regelmäßig gefunden (Burgeff, p. 120). Sonst erwähnt nur Burgeff in einem Falle sklerotisch dichte Sporenhaufen in abgestorbenen Wurzelepidermiszellen von *Ophris muscifera*.

ihren Zellen sind die eigenartigen Netzverdickungen aufgetreten, die den toten Blattresten die Fähigkeit der Wasserspeicherung verleihen. Die Früchte sind gereift, bleiben aber geschlossen (am natürlichen Standort wird der Fruchtstand durch die Schneebedeckung niedergedrückt, in der Kultur bleibt er dauernd erhalten). Die Reserveknolle hat sich bedeutend vergrößert und ist vollgepfropft mit Stärke. Ihr angedrückt ist die Knospe der nächstjährigen Pflanze schon vollkommen ausgebildet. Auch der Pilz hat sich durch die Sporenbildung für den Schluß der Vegetationsperiode vorbereitet. Die Grundachse hat ihre Aufgabe erfüllt und wird durch Verstopfung der verholzten, reich getüpfelten Zellen mit einer auffallenden gelben Masse [1] von der Knolle in schmaler Trennungsschichte abgetrennt und geht zugrunde. Schon Ende September ist es kaum noch möglich, einen Schnitt durchzuführen, weil der Zellverband schon in Auflösung ist. Nur die Leitbündel und das von ihnen umschlossene Mark wiederstehen ein volles Jahr der Verwesung. Ich fand es daher recht auffallend, daß auch in den Rindenzellen wenige Wochen vor dem Absterben dieselben Netzverdickungen auftraten wie in den Blättern. Die Beobachtungen im April 1921 klärten den Widerspruch auf. Die Rindenzellen bilden um die Infektionswurzel eine schützende wasserspeichernde Hülle. Die Netzverdickungen sind ± verholzt. Ihre Entstehung kurz vor dem Absterben der Zellen erklärt es, daß diese Verholzung in vielen Fällen wenig weit vorgeschritten ist, so daß man oft die Holzreaktionen ohne oder mit schwachem Erfolg versucht.

Wir müssen uns zum Schlusse die Frage stellen, welchen Verpilzungstyp wir bei *Liparis Loeselii* vor uns haben. Schon Magnus hat die Forderung aufgestellt, daß man die Verpilzungsformen der Orchideen nicht unnatürlich nach der Form der Klumpen in ein System bringen dürfe, sondern den Grad der Differenzierung in Wirt- und Verdauungszellen als Einteilungsgrund nehmen müsse. Für *Liparis* ist nun das Kennzeichnende das Fehlen einer dauernden Pilzwirtschicht. Am Ende der Vegetationsperiode findet sich der Pilz in den meisten Zellen verdaut oder degeneriert. Nur ganz regellos liegen ab und zu Zellen dazwischen, in denen sich der Pilz noch erhalten hat. Nach diesen Verhalten ist *Liparis* an der Seite der *Neottieae* zu stellen, für die gleichfalls das Fehlen einer dauernden Wirtschicht bezeichnend ist. (Die ausführlichste Zusammenstellung aller anatomischen Befunde finden sich im angegebenen Buche Burgeff's, II. Teil, Pilz und Pflanze, C. Die interzellulären Vorgänge in der Pflanze, p. 95 ff. Dort auch alle nötigen Literaturangaben.) So finden sich in den aus sehr zahlreichen Schichten bestehenden Rindengewebe der rübenförmig verdickten *Spiranthes*-Wurzeln [2] Pilzknäuel und -klumpen in unregelmäßigen Komplexen. Bei *Goodyera* [2] nimmt die Verdauung einfach gegen die äußere Rinde hin zu. Bei *Coryanthes* [2] wird das Rhizom durch eigentümliche Trichome infiziert. Der Pilz kann

---

[1] Obwohl ich dieser gummiartigen, stark lichtbrechenden Masse, die sich von der Zellwand mit scharfem Rande abhebt, einige Aufmerksamkeit schenkte, konnte ich ihre chemische Natur nicht ermitteln. Mit Sudanglyzerin und besonders mit Scharlachrot erhielt ich distinkte Rotfärbung, doch machte das Versagen wiederholter Verseifungsversuche die Fettnatur fraglich. Reaktionen auf Gerbstoffe, Phloroglukotannoide und Pentosane verliefen negativ. In Alkohol verschwinden die amorphen gelben Ballen, es treten aber feinkörnige Fällungen auf. Die Masse scheint anfangs weich zu sein und später zu erstarren, denn sie ist dann oft stark rissig.

[2] Burgeff a. a. O., p. 127 bis 129 und die dort angegebene Literatur.

dann in allen Rindenzellen des Rhizoms der Verdauung anheimfallen. Mit diesen Pflanzen steht *Liparis Loeselii* am Anfang der anatomischen Differenzierung der Verpilzung.

Nach dem Endergebnis wird auch bei diesen Pflanzen gewöhnlich von Verdauungszellen gesprochen. Ich bin aber der Ansicht, daß der Begriff Verdauungszellen im Gegensatz zu Wirtzellen nur dort gebraucht werden sollte, wo tatsächlich eine Sonderung eingetreten ist und bestimmte Zellen von vornherein dazu bestimmt sind, den Pilz, sobald er die Zelle gefüllt hat, zu verdauen, während andere den Pilz ohne Schädigung beherbergen. Bei *Liparis* aber lebt der Pilz viele Wochen ohne Anzeichen einer Degeneration in den Zellen, man würde diese Zellen unbedenklich als Wirtzellen bezeichnen, würde nicht später der Pilz doch verdaut. Der Ausdruck Verdauungszellen wird bei *Liparis Loeselii* dadurch noch weniger scharf faßbar, weil die Degeneration des Pilzes nicht in allen Zellen bis zur bezeichnenden Klumpenbildung fortschreitet, sondern nur eine Ballung der stark kollabierten Hyphen eintritt, wobei die einzelnen Hyphen noch kenntlich bleiben. Burgeff will für diese Fälle nicht den Namen Verdauung angewendet wissen, denn er stellt eine Angabe von Magnus, er habe bei *Platanthera bifolia* den Pilz gelegentlich in allen Zellen verdaut gefunden, dahin richtig, daß in den Wirtzellen die Hyphen bei der Verdauung verschont bleiben, aber später, etwa zur Blütezeit der Pflanze »von selbst« degenerieren und vom Pflanzenplasma unter Mitwirkung des Kernes etwas zusammengeballt werden. Diese Scheidung kann nun wohl bei der in ihrer Verpilzung ziemlich hochstehenden *Platanthera* scharf durchgeführt werden, weil dort Wirt- und Verdauungszellen von vornherein einen verschiedenen Entwicklungsgang nehmen und echte Verdauung und Ballung zeitlich auseinander liegen. Es ist aber klar, daß sich diese Scheidung bei weniger differenzierter Verpilzung kaum aufrecht erhalten läßt.

Es ist daher wohl das Natürlichste, für solche Fälle die Scheidung in Wirt- und Verdauungszellen überhaupt fallen zu lassen. Wir haben eine anatomisch einfache Form der Symbiose, bei der die Sonderung noch nicht ausgebildet ist.

Wir erhalten so eine Reihe, die von den *Neottieae* und *Malaxidae* (bei den beiden andern einheimischen Malaxiden *Achroanthus monophyllos* und *Malaxis paludosa* ist die Verpilzung jedenfalls sehr ähnlich), bei denen in denselben Zellen, die den Pilz beherbergen, später Verdauung eintreten kann, über die *Ophrydeae* mit ständiger Sonderung in Wirt- und Verdauungsschicht bis zur höchsten Form der *Neottia* führt, die in schärfster, unabänderlicher Ausprägung eine äußere und innere Verdauungszone und eine Wirtschicht in der Mitte besitzt.

Nur in einer Hinsicht ist es nicht ganz gerechtfertigt, die Verpilzung von *Liparis* in einer Linie mit der der übrigen Orchideen zu betrachten: wir dürfen die Achsenverpilzung bei

Liparis nicht ohne weiteres mit der Wurzelverpilzung der übrigen gleichsetzen. Gerade die Differenzierung in Wirt- und Verdauungszellen findet sich in dieser scharfen Ausprägung nur in den Wurzeln. Magnus fand selbst für die so hoch differenzierte *Neottia*, daß die Sonderung im Rhizom und namentlich im unteren Teil des Stengels immer mehr schwindet. Er fand im Rhizom den Pilz nur in wenigen, nicht bestimmt lokalisierten Zellen, im Stengel überhaupt nie verdaut. Dort ist aber die Rhizomverpilzung nur von nebensächlicher Bedeutung. Er fand Rhizome pilzfrei oder bis zu sechs Rindenschichten verpilzt. Auch bei den Ophrydeen mit verpilztem Rhizom kommt doch die Hauptbedeutung der Wurzelverpilzung zu. Die vollkommen regelmäßige, nie fehlende Verpilzung der Achse gleichzeitig mit zurücktretender Wurzelverpilzung ist das Neue und Eigenartige bei den Malaxiden, worauf schon Goebel hingewiesen hat (vgl. die anfangs angeführten Sätze). Wir sind daher zur Annahme berechtigt, daß hier die Achsenverpilzung die Aufgabe der Mykorrhiza vollwertig übernommen hat und mit Rücksicht darauf können wir Achsenverpilzung hier und Wurzelverpilzung dort als physiologisch und biologisch gleichwertig in einer Linie betrachten, wenn es sich nur um die Aufstellung einer biologischen Reihe handelt.

Überblicken wir noch einmal die Gesamtheit der anatomischen Befunde, so kommen wir zum Schluß, daß die Symbiose bei *Liparis Loeselii* eine der wenigst ausgebildeten unter den Orchideen ist. Der Pilz ist bei *Neottia* schon vollkommen ans Leben in der Pflanze angepaßt, seine Isolierung gelingt nicht mehr, Fortpflanzungskörper werden nicht gebildet, Kommunikationen mit dem Boden treten nur selten und unregelmäßig auf. Bei der Mehrzahl der Orchideen gelingt die Isolierung, dagegen werden Fortpflanzungskörper, Sporenketten nur in den reproduktiven Hyphen gebildet, die durch Wurzelhaare die Pflanze verlassen. Bei *Liparis* gelingt die Isolierung sehr leicht, Fortpflanzungskörper werden auch in (allerdings meist abgestorbenen) Geweben der Pflanze sehr reichlich gebildet, die Verbindungen mit dem Boden sind zahlreich. Der *Liparis*-Pilz hat in der Pflanze seine Selbständigkeit noch nicht weitgehend aufgegeben. Parallel mit der anatomischen Differenzierung läuft dann die gegenseitige Abhängigkeit der Symbionten voneinander.

IV. Physiologisch-ökologischer Teil.

Auf die Deutungsmöglichkeiten der Pilzsymbiose einzugehen, kann ich mir im Hinblick auf die wiederholten Erörterungen dieser Frage füglich ersparen. Ich verweise aus der neueren Zeit nur auf E. Stahls »Sinn der Mykorrhizenbildung«,[1] auf die Abschnitte

---

[1] Jahrb. f. w. Botanik, 34. Bd. (1900).

D und E (p. 147 bis 207) in H. Burgeffs »Wurzelpilzen«, die alles auf die Orchideen Bezügliche zusammenstellen und kritisch verarbeiten, auf H. Weylands Beitrag »Zur Ernährungsphysiologie mykotropher Pflanzen«[1] und die Darstellung des gegenwärtigen Stands der Frage durch H. Miehe.[2]

Für mich handelt es sich bloß darum, Tatsachen zusammenzustellen, die auf die Ernährungsphysiologie der Pflanze und des Pilzes ein gewisses Licht werfen.

A. Die verpilzte *Liparis Loeselii.*

1. Die Assimilation.

Im Kampf um die Nährsalze sind bei den höheren Pflanzen drei Arten von Heterotrophie entstanden, die fremde Organismen in den Dienst der eigenen Nährsalzversorgung stellen, der Parasitismus, die Mykotrophie und die Carnivorie. Erst in zweiter Linie bot dann diese Ausnutzung fremder Lebewesen Gelegenheit, auch den Kohlenstoff auf diesem Wege zu beziehen und so ging im Laufe der Entwicklung dieser biologischen Gruppen die Fähigkeit selbständiger Kohlensäureassimilation immer mehr verloren, während die Anfangsglieder solcher Reihen vollständig assimilationstüchtig sind. (Ich erinnere an die von Heinricher aufgedeckte Entwicklungsreihe der Rhinantheen. Eine ähnliche Abstufung der Assimilationsfähigkeit finden wir beim Vergleich der heimischen Orchideen. Vgl. Burgeff, p. 172.) Entsprechend den anatomischen Befunden, die für *Liparis* eine verhältnismäßig ursprüngliche Stufe der Verpilzung dartaten, ist *Liparis Loeselii* auch in der Assimilation des Kohlenstoffs vom Pilz unabhängig. Alle oberirdischen Organe der Pflanze, Blätter, Sproßknolle, Stengel, Blüten und Früchte sind grün. Die beiden Laubblätter erreichen eine recht beträchtliche Größe und sind von einfachem Bau: die spaltöffnungsfreie obere Epidermis bildet einen schwach entwickelten Wassergewebsmantel aus zarten, inhaltsarmen Zellen, die Epidermis der Unterseite hat merklich kleinere Zellen und sehr viele, kleine Spaltöffnungen vom *Cypripedium*-Typus mit kleinen Cutinhörnchen. Dazwischen liegen meist vier Lagen ellipsoidischer Zellen, die sämtlich Chlorophyll führen. In diffusem Licht stehen die Chlorophyllkörner in Flächenstellung an den der Oberfläche parallelen Wänden.

Der Nachweis der Assimilation gelingt für *Liparis* sehr leicht, da sie, abweichend von der Mehrzahl der Orchideen (unter den einheimischen sonst nur noch *Cypripedium* und *Herminium monorchis*, für die beiden anderen Malaxiden liegen keine Angaben vor)

---

[1] Jahrb. f. w. Botanik, 51. Bd. (1912).

[2] Flora, 111. und 112. Bd. (Stahlfestschrift 1918).

Stärkeblätter besitzt. Durch die Sachs'sche Jodprobe läßt sich denn auch an tagsüber belichteten Blättern reichlich Stärke nachweisen, während mit schwarzem Papier verdunkelte Streifen stärkefrei sind. Der Farbenton ist nach der Probe ein dunkleres Weinrot, da *Liparis* (ebenso wie *Microstylis monophyllos*) »rote« Stärkekörner[1] besitzt.

Im Dunkeln gehaltene Pflanzen halten sich einige Zeit ganz gut. Nach etwa vier Wochen erweisen sie sich aber als schwer geschädigt, die Blätter werden fleckig und schlaff.

2. Transpiration und Nährsalzversorgung.

Stahl hat in seiner vergleichend biologischen Studie »der Sinn der Mykorrhizenbildung« (a. a. O.) als gemeinsames Merkmal aller Mykotrophen eine geringe Wasserdurchströmung gefunden und diese damit in Zusammenhang gebracht, daß der Pilz die Pflanze hinreichend und ökonomischer mit Nährsalzen versorge, wodurch der Pflanze ein Ersatz für die geringe Transpiration geboten werde. Für die Herabsetzung der Transpiration läßt sich eine ähnliche Reihe aufstellen, wie für die der Assimilation (Burgeff, p. 172). Anzeichen geringer Wasserdurchströmung sind nach Stahl: spärliches, unverzweigtes Wurzelwerk, Fehlen der Wurzelhaare, Fehlen einer Ausscheidung flüssigen Wassers, Blattglanz, langsames Welken, Zuckerblättrigkeit (wegen der damit verbundenen Erhöhung des Turugors).

Die Wasserdurchströmung bei *Liparis* ist nun ziemlich ansehnlich. Wohl hat ihr der Glanz der Blattoberseite den deutschen Namen »Glanzkraut« eingetragen und auf dieselbe Eigenschaft spielt das griechische λιπαρός (= fettig) an. Dieser Blattglanz ist aber wohl in erster Linie ein Schutz gegen zu große Bestrahlung, die auf den schattenlosen Mooren im Sommer tatsächlich eine ernste Gefahr werden kann.

Von den drei Malaxiden hat *Liparis* die kräftigste Bewurzelung,[2] indem hier nicht nur am blattlosen Grund der Achse, sondern auch noch über den Niederblättern Adventivwurzeln entstehen können. Ich zählte an besonders kräftigen Pflanzen bis zu 20 Wurzeln, von denen die längsten 45 *mm* lang wurden. *Microstylis* trägt nach Irmisch 3 bis 6 Wurzeln, Malaxis besitzt stets nur eine einzige. *Drosera* hat nach Schmid[3] 1 bis 3 Wurzeln von durchschnittlich 15 *mm* Länge. Die Wurzeln von *Liparis* sind stets unverzweigt und mit sehr vielen Wurzelhaaren bedeckt. Das

---

[1] Vgl. Molisch H., Mikrochemie der Pflanze, 2. Auflage, p. 384.

[2] Goebel, a. a. O., p. 96. Irmisch, Flora 1863, p. 1.

[3] G. Schmid: Beiträge zur Ökologie insektivorer Pflanzen. Diss. Jena. 1912.

Wurzelwerk von *Liparis* ist also sicher an und für sich schwach, im Vergleich mit anderen Mykotrophen aber verhältnismäßig kräftig. Dabei ist zu bedenken, daß die Wurzeln oft im Wasser stehen, beinahe immer in feuchtem Moos gebettet sind.

Zudem ist des wirksamen Absorptionssystems zu gedenken, das die toten Blatthüllen und die Achsenrinde mit ihren Netzverdickungen darstellen. Rhizoiden an Achse und Blattbasen entnehmen diesen Wasserbehältern das Wasser.

Die Wasserabgabe ist bei der starken Bestrahlung, namentlich bevor das Schilfrohr entsprechend hoch geworden ist, gleichfalls als hoch anzunehmen. Abscheidung flüssigen Wassers fehlt allerdings. (Sie findet sich unter den einheimischen Orchideen nur bei den wenig mykotrophen *Cypripedium, Epipactis* und *Listera ovata*.)

Besonders auffallend ist die hohe Zahl von Spaltöffnungen. Die Zahl der Spaltöffnungen ist an sich natürlich kein Maßstab für die Transpirationsgröße, weil die verschiedenen Bautypen sehr verschieden wirksam sein können. Je näher sich aber die verglichenen Formen stehen, um so eher kann die Zahl ihrer Spaltöffnungen als Ausdruck der Transpirationsgröße genommen werden.[1] Allerdings sind die Spalten von *Liparis* bei sonst ähnlichem Bau erheblich kleiner als die der zum Vergleich herangezogenen Formen.[2]

Auf einem Quadratmillimeter zählte ich bei

Liparis Loeselii	136	Spaltöffnungen
Epipactis palustris	70 bis 80	»
Coeloglossum viride	64 bis 72	»
Gymnadenia odoratissima	50	»
Goodyera repens	40 bis 60	»

Unter den geprüften einheimischen Orchideen besitzt also *Liparis* weitaus am meisten Spaltöffnungen, die wenig mykotrophe *Epipactis palustris* desselben Standorts kommt ihr mit der Hälfte der Spalten noch am nächsten.

Schließlich sei nochmals auf den Besitz von Stärkeblättern bei *Liparis* hingewiesen, worin sie wieder dem wenig mykotrophen Frauenschuh nahesteht.

Wägungsversuche ergaben auch tatsächlich für *Liparis* eine sehr ansehnliche Transpiration. Eine kräftige *Liparis*-Pflanze mit $2 \times 19\,cm^2$ Blattfläche (Oberseite + Unterseite), die in einen wassergefüllten Glaszylinder so eingesenkt wurde, daß die Wurzeln in Wasser tauchten und der Zylinder über der Knolle mit Kork verschlossen und mit Paraffin abgedichtet wurde, zeigte in drei-

---

[1] Vgl. Haberlandt G. Physiologische Pflanzenanatomie, 5. Auflage, p. 440.

[2] Die Diffusion durch Löcher in einer dünnen Wand ist aber nicht der Fläche, sondern nur dem Radius proportional (Renner O., Flora. 100, S. 541).

tägiger Beobachtung folgende durch Wägung ermittelte Transpirationsgrößen:

Frischgewicht der Pflanze (samt Knolle und Wurzeln) 3·20 *g*.
Freie Oberfläche (über der Paraffindichtung) 42·5 cm^2.
(19 + 19 Blattfläche, 2·5 Stiel, 2 Früchte.)

Tag	Stunde	Gewichts-verlust	pro Stunde und cm^2 Oberfläche	Anmerkung
3. VII. 1920	17^{h}	0·450 *g*	0·0064	sonniger, windiger Nachmittag
3. VII. 1920	18^{40}			
5. VII. 1920	16^{30}	3·870	0·002	Durchschnitt von 2 Tagen
6. VII. 1920	8^{45}	0·730	0·001	Nacht (Transpiration verringert)
7. VII. 1920	15^{45}	3·650	0·0028	2 sonnige Tage

Durchschnitt aller 3 Tage 2·16 *mg* pro Stunde und cm^2.

Zum Vergleich entnahm ich Pfeffer's Pflanzenphysiologie (I. Bd., p. 153) willkürlich folgende Zahlen:

Hanf..........3 *mg* pro Stunde und Quadratzentimeter Oberfläche
Hopfen........1·8 » » » » »
Roggen ....1·95 » » » » »
Erbse ....1·05 » » » » »

Der Einfluß des Lichtes geht aus folgenden Angaben Wiesner's hervor. (Untersuchungen über den Einfluß des Lichtes und der strahlenden Wärme auf die Transpiration. Sitzungsber. Wiener Akad., I. Abt., 74. Bd. (1876), p. 21 des Separatabdruckes):

Mais im Dunkeln.......0·97 *mg* pro Stunde und Quadratzentimeter
» » diffusen Licht..1·14 » » » »
» » Sonnenlicht....7·85 » » » »

Die Transpiration der *Liparis* bei Nacht und an sonnigen Nachmittagen bewegt sich nahezu in den gleichen Grenzen.

Von einer verringerten Wasserdurchströmung kann also bei *Liparis* offenbar nicht die Rede sein. Die Transpiration erreicht an sonnigen Nachmittagen einen stündlichen Wasserverlust, der ein Zwölftel des Frischgewichtes beträgt. In Anbetracht der Nährsalzarmut der Moore können aber die Stahl'schen Erwägungen trotzdem zu Recht bestehen. Es ist möglich, daß auf diesem Standort der gleiche Wasserstrom, der an anderen Standorten die Pflanzen hinreichend mit Nährsalzen versieht, nicht

hinreicht, um den Nährsalzbedarf zu decken. Es gelten die Erwägungen, die Schmid (a. a. O.) über die gleichfalls ziemlich stark transpirierende *Drosera* anstellt. Er stützt sich auf Bodenanalysen Webers aus dem mittleren Teil des Hochmoors von Augustumal, auf dem allein *Drosera* vorkommt und vergleicht sie mit dem Nährstoffgehalt eines diluvialen Lehmbodens.

100 *g* Trockensubstanz enthalten

	in Augustumal	auf diluvialem Lehm	Verhältnis
K	0·044 *g*	1·06 *g*	1 : 2·4
PO_4	0·075	0·18	1 : 2·4
Ca	0·217	2·86	1 : 13·1
Mg	0·138	0·88	1 : 5·9
N	Hochmoor	Kiefernwaldhumus	1 : 27·3

Daraus folgt, daß auf solchen Standorten erst eine vielfach größere Wassermenge den gleichen Nährsalzbedarf zu decken vermag. Ich möchte allerdings anderseits auf das außerordentlich träge Wachstum der Orchideen verweisen, das doch einen bedeutend geringeren Nährsalzverbrauch zur Folge haben muß.

Zwingend erscheint mir also aus diesen Überlegungen die Notwendigkeit des Pilzes für die Nährsalzversorgung nicht hervorzugehen. Da aber die Ausbeutung des Pilzes durch die Pflanze bei der Verdauung eine mikroskopisch beobachtete Tatsache ist und die Assimilationsversuche die Selbständigkeit der Pflanze auf diesem Gebiete dargetan haben, ist es doch sehr wahrscheinlich, daß die Verdauung des Pilzes der Pflanze die so schwer erreichbaren Nährsalze liefern muß. Der Vergleich mit den Insektivoren wäre dann wenigstens für die Verdauung gerechtfertigt.

Im übrigen sollen Versuche mit pilzfreien Pflanzen über die Notwendigkeit oder Entbehrlichkeit des Pilzes entscheiden.

3. Die Fortpflanzung.

Als Bernard im Jahre 1903 aus den Orchideen Pilze isolierte, die Orchideensamen zur Keimung brachten, schien das Geheimnis, das die Keimung der Orchideensamen umhüllte, entschleiert. Tatsächlich gelingt heute die Anzucht tropischer Orchideen aus Samen mit großer Sicherheit, über den Keimungsbedingungen der einheimischen Orchideen liegt der Schleier aber noch ebenso dicht wie einst. Burgeff gelang es trotz mannigfacher Versuchsanstellungen nicht, einheimische Orchideen zum Keimen zu bringen (a. a. O., 1909, p. 51). Es lag mir im Rahmen dieser Untersuchung fern, der Samenkeimung eine besondere Aufmerksamkeit zu widmen. Es sei nur erwähnt, daß sterile, im Herbst auf verpilzten Nährböden ausgesäte Samen, die teils am Licht, teils im Dunkeln unter verschiedenen konstanten oder täglich schwankenden Temperaturbedingungen gehalten wurden, bis Ostern keine Entwicklung zeigten. Ein Teil der Kulturen war inzwischen verunreinigt worden, einige aber waren noch vollkommen rein.

Da die Fruchtkapseln von *Liparis* sich nicht von selbst öffnen, können allerdings am natürlichen Standort die Samen erst durch die Schneebedeckung in den Boden kommen und daher frühestens im Frühjahr keimen. Dabei dürfte es sich aber wohl nur um eine erzwungene Ruhe handeln, da von anderen heimischen Orchideen noch im Oktober die Keimlinge der gleichjährigen Samen gefunden werden und die tropischen Orchideen innerhalb von 14 Tagen keimen.

Pflänzchen, die erst in der zweiten Vegetationsperiode standen, fand ich wiederholt. Es dürfte sich aber wohl fast immer um Adventivpflanzen gehandelt haben, die im Vorjahr an der inzwischen verfaulten alten Knolle entstanden und nun selbständig geworden sind. Ich wurde leider auf diese Adventivbildungen erst aufmerksam, als eine Beobachtung am natürlichen Standort nicht mehr möglich war.

Die Entstehung von Adventivpflänzchen an der Knolle von *Liparis (-Sturmia) Loeselii* hat zuerst Irmisch[1] beschrieben und er hat eine Knolle mit drei Adventivknospen abgebildet. Ich habe nie mehr als eine Adventivknospe gefunden, diese aber nahezu immer. Ich konnte daher auch ihre Entwicklungsgeschichte recht gut verfolgen.

Wenn die normale Knospe ausgetrieben und sich zur blühenden Pflanze entwickelt hat, bleibt in der Reserveknolle immer noch eine ansehnliche Menge Stärke zurück. Diese Stärke sammelt sich im oberen Teil der von der jungen Pfianze abgekehrten Hälfte der Knolle an einer Stelle besonders dicht an, an der zwei, manchmal auch drei Leitbündel wieder zusammenlaufen.[2] Man erkennt im Juli diese Stelle, den neuen Vegetationspunkt mit freiem Auge als weißes Pünktchen. Es treten in und unter der Epidermis Zellteilungen auf, die Kerne treten deutlicher hervor und es wölbt sich ein Vegetationspunkt vor, an dem in $^1/_3$-Stellung 3 Blattanlagen auftreten (Fig. 8). Die Unterseite dieser Blatthöcker entwickelt sich bedeutend stärker und liefert eine kreiselförmige Anschwellung der Achse, die in manchen Fällen noch weiter als Entwicklung des Blattgrundes kenntlich bleibt (Fig. 9), in anderen Fällen als Teil der knolligen Grundachse erscheint. Es entsteht bis September ein etwa 2 *mm* großes Pflänzchen (Fig. 10), das mit einer winzigen Sproßknolle abschließt, der die Knospe des nächsten Jahrestriebs seitlich anliegt. In diesem Stadium findet man Pflänzchen manchmal noch unverpilzt, meist aber ist der Pilz schon durch die langen Rhizoiden der Blattgrundschwellung (eine kleine, Rhizoiden tragende Anschwellung besitzen auch die Blätter erwachsener Pflanzen) in die Achse eingewandert und hat hier die Rinde in der bekannten Ausdehnung in Besitz genommen.

Wurzeln besitzt das Pflänzchen nicht. Als Absorptionssystem dienen wiederum die oft erwähnten Netzfaserzellen. Hier treten Netzverdickungen nicht nur in allen Zellen der Achsenrinde und des Blattgrundes auf, sondern auch in den Zellen der Mutterknolle, die wieder embryonal geworden sind und den Vegetationspunkt für die Adventivknospe geliefert haben. Es ist der einzige Fall, daß in der Knolle diese Verdickungen auftreten.

---

[1] Irmisch Th., Zur Morphologie der monocotylischen Knollen- und Zwiebelgewächse. Berlin 1850, p. 159: »Auf der vorjährigen Knolle entwickeln sich nicht selten, und zwar meistenteils auf dem Scheitel derselben, also durchaus nicht in den Blattachseln, kleine spitze Knöspchen (*gemmae adventivae*), die bald abfallen und selbständige Pflänzchen bilden.«

[2] Ich fand einmal eine solche Knolle, in der die Stärkekörner ganz abweichende Gestalt besaßen. Statt vieler kleiner, fanden sich in jeder Zelle nur wenige (4 bis 7) große Stärkekörner in der Gestalt kreisförmiger, konzentrisch geschichteter Scheiben (Fig. 11). Im Polarisationsmikroskop bilden daher bei gekreuzten Nikols die Auslöschungsbalken ein ganz gleicharmiges Kreuz (wie ein Deutschmeisterkreuz). Mit Jod färbten sich diese Stärkekörner wie die übrigen braunrot. Im Meristem für die Adventivknospe waren die Stärkekörner normal.

In einem Falle fand ich in fast allen verpilzten Rindenzellen eines solchen Adventivpflänzchens je ein bis zwei würfelige oder oktaedrische Krystalle von starker Lichtbrechung, die an die bekannten Eiweißkrystalloide der Kartoffel erinnerten. Sie gaben jedoch keine Eiweißreaktionen. Das spärliche Material gestattete leider nicht, die Natur der Krystalle festzustellen, so wichtig dies möglicherweise für die Theorie der Symbiose gewesen wäre. Es erscheint mir nämlich wahrscheinlich, daß ihr Auftreten auf die Anhäufung eines Stoffwechselproduktes des Pilzes zurückzuführen war, das von den rascher wachsenden größeren Pflanzen sofort verbraucht wird, während es hier auskrystallisierte. In den pilzfreien Zellen fehlten diese Krystalle. Ich habe sie aber auch an anderen Adventivpflanzen nie wieder gefunden.

Im zweiten Jahr entwickelt sich eine verhältnismäßig lange, dünne Achse, die in etwa 12 *mm* Entfernung wieder eine kleine Knolle von 1 bis 2 *mm* Durchmesser entwickelt und ein einziges Laubblatt, das erste, trägt. Die Länge der Grundachse ist biologisch verständlich, denn die Knolle soll ja immer an der Oberfläche der ständig weiterwachsenden Moospolster bleiben. Nun ist die Adventivpflanze gegenüber ihrer legitimen Schwester ohnedies um ein volles Jahr zurück und muß daher durch starke Streckung den Vorsprung nachholen. Die ganze Achse ist in ihrer (nur zwei- bis vierschichtigen) Rinde verpilzt. Im wievielten Jahr die Pflanze zur Blüte kommt, weiß ich nicht.

B. Der Pilz.

Schon wenige Wochen nach Beginn meiner Untersuchungen ging ich an die Isolierung des Orchideenpilzes. Ich hielt mich genau an Burgeff's ausgezeichnete Anleitung (Anzucht tropischer Orchideen aus Samen, Jena 1911) und erhielt gleich beim ersten Versuch aus 25 von 30 Impfstellen auf 6 Platten einen Pilz, der sich durch seine radial unbegrenzt fortwachsenden Langhyphen und die nahezu senkrecht von diesen abzweigenden Kurzhyphen als ein *Orcheomyces* zu erkennen gab. Als am achten Tage an Stelle von Kurzhyphen auch Ketten kugeliger Konidien auftraten, war es sicher, daß ich den richtigen Symbionten gewonnen hatte.

Aus diesen Rohkulturen kommt man rasch zu Reinkulturen, indem man einige Male auf Platten abimpft, denen keine Stickstoffquelle beigegeben ist. Die in der Stärke und sonst als Verunreinigungen vorkommenden Stickstoffmengen genügen für den *Liparis*-Pilz, während Bakterien auf solchen Böden zurückbleiben.

Zum Vergleich isolierte ich auch aus einer *Phalaenopsis* ihren Symbionten, der sich in der Wuchsform vom *Orcheomyces Loeselii* (wie ich ihn kurz nennen will, ohne die Möglichkeit zu bestreiten, daß er nur eine physiologische Rasse eines anderen Pilzes darstellt) deutlich unterscheidet. Dieser ist träg wüchsig, breitet sich kaum jemals über die ganze Platte aus und erhebt sich nicht über das Substrat, während der *Phalaenopsis*-Pilz eine Platte rasch mit einem flaumigen Luftmyzel überspinnt. Der *Phalaenopsis*-Pilz ist auch kräftiger, seine Hyphen haben 7 μ Durchmesser, die ellipsoidischen Sporen sind bis 22 μ lang, bei einem Durchmesser von 15 μ, die Hyphen des *O. Loeselii* haben einen Durchmesser von 4 μ. die fast kugeligen Sporen

einen von 10 bis 15 μ. Die Formen wechseln allerdings je nach der Nährlösung. Wird als Stickstoffquelle ein Ammonsalz gegeben, so bilden die Sporenketten regelmäßig im Substrat verteilte, sternförmige Häufchen, die dem freien Auge als weiße Pünktchen erkennbar sind. Jede einzelne Sporenkette zählt ungefähr 10 kugelige Glieder. Steigert man die Kohlehydratkonzentration von $^1/_2$ bis 5 $^0/_0$, so werden die einzelnen Sporen etwas länglich ellipsoidisch. Wird Harnstoff als Stickstoffquelle gegeben, so sind die Hyphen etwas dicker, die Sporen sind nicht zu Häufchen vereint, sondern unregelmäßig im Myzel verteilt, die Sporenketten bestehen nur aus 3 bis 4 kugeligen Gliedern Knäuelbildung an der Oberfläche des Substrats habe ich nie beobachtet, ebenso trat nie Sklerotienbildung ein.

Nimmt man die Wuchsform der Ammonsalzkulturen für die Beurteilung, so ist es klar, daß der Pilz zu jener Gruppe gehört, die Burgeff (»Wurzelpilze«, p. 25) als Gruppe I vom Typus *Orcheomyces psychodis* bezeichnet und zwar steht er gestaltlich gerade dem Typus sehr nahe, so daß die Burgeff'schen Abbildungen (Fig. 11, 12) beinahe genau das Aussehen des *O. Loeselii* bei $^1/_2$ $^0/_0$ Stärke und Ammoniumchlorid als Stickstoffquelle wiedergeben. Abweichend ist nur das Fehlen der Sklerotien und der Hyphenknäuel. Es ist dieselbe Form, die Bernard[1] als *Rhizoctonia repens* folgendermaßen kennzeichnet: »Mycelium toujours rampant, formant sur les milieux nutritifs riches un voile épais, blanc jaunâtre, qui peut devenir brun clair tardivement. Filaments moniliformes ramifiés, groupés en petits amas granuleux, jamais anastomosés. Pelotons formés par l'enroulement de filaments mycéliens sur eux-mêmes pendant de nombreux tours«. Dagegen wird der *Phalaenopsis*-Pilz zur Art *Rh. mucoroides* gestellt.

Während der Wintermonate wurden die Ernährungsansprüche des Pilzes in Flüssigkeitskulturen geprüft. Das Myzel bildet stets unter dem Flüssigkeitsspiegel eine schwer zerteilbare Flocke und erreicht ihn nur bei besonders üppiger Entwicklung.

Ich arbeitete immer mit der stickstoffreien, mineralischen Nährlösung nach Arthur Meyer[2]

1 *l* destilliertes Wasser
1 *g* KH_2PO_4
0·3 *g* $MgSO_4 + 7 H_2O$
(0·1 *g* $CaCl_2$)
(0·1 *g* $NaCl$)
0·01 *g* Fe_2Cl_6

der wechselnde Mengen von Stärke oder Dextrin und verschiedene *N*-Quellen beigegeben wurden.

Es seien hier nur die Ergebnisse zusammengestellt, die diesen Torfmoorpilz von den von Burgeff untersuchten (p. 27 bis 41) nicht nennenswert unterscheiden:

---

[1] Angeführt von Burgeff im Anhang, p. 209.

[2] Praktikum der bot. Bakterienkunde, Jena 1903, p. 15. Diese Nährlösung empfiehlt Burgeff (1911).

1. *O. Loeselii* verlangt neutrale oder schwach alkalische Nährböden. In saueren Nährlösungen erfolgt überhaupt kein Wachstum. Daher wurden alle Kulturen stets sorgfältig neutralisiert.

2. Die Konzentration der Kohlehydrate kann innerhalb weiter Grenzen ($^1/_2$ bis $5\,^0/_0$) schwanken, ohne das Wachstum dauernd zu beeinflussen. Die Förderung durch hohe Konzentrationen ist mehr vorübergehend und verwischt sich allmählich wieder. Sporenbildung erfolgt bei allen geprüften Konzentrationen. In den folgenden Versuchen wurden 1 bis $2\,^0/_0$ Kohlehydrate geboten.

3. *O. Loeselii* wächst

gar nicht mit Nitriten und Ammoniumoxalat,
schlecht mit Nitraten und Ammoniumtartrat,
gut mit mineralischen Ammonsalzen, Asparagin (ohne Sporen zu bilden),
sehr gut mit Harnstoff und Pepton,
ausgezeichnet mit Ammoniumcitrat (einen festen weißen Kuchen bildend. Reichlich Sporen). Die Kohlehydrate sind dabei aber nicht entbehrlich.

4. *O. Loeselii* kommt mit sehr geringen Mengen von Stickstoff aus. Eine Assimilation atmosphärischen Stickstoffs scheint aber nicht stattzufinden. Neben allen Versuchsreihen liefen stets Kulturen, denen kein Stickstoff beigegeben war. Bei jeder Neuimpfung wurde wieder von einer solchen Kultur abgeimpft, um den Fehler zu verringern. Trotzdem blieb das Wachstum nie nennenswert hinter den Ammonsalzkulturen zurück. Erst als ich unter einer Glasglocke 10 Kolben mit folgender Nährlösung aufstellte:

0·5 *g*	K_2HPO_4	durch	zweimaliges	Umkrystallisieren	gereinigt
0·15 *g*	$MgSO_4$	»	»	»	»
Spur	$FeSO_4$	»	»	»	»

10 *g* wasserklarer Kandiszucker in schönen Krystallen gelöst in 500 *g* heißem destillierten Wasser, wobei ein Schälchen mit H_2SO_4 konz. und eine Menge Ätznatron für die Absorption von Ammoniak oder Salpetersäure sorgten, erfolgte beinahe kein Wachstum mehr.

Die gute Ausnutzung aller geprüften, niedrig oxydierten Stickstoffverbindungen ist mit Rücksicht auf den Standort biologisch verständlich, ebenso wie die schlechte der Nitrate. Die Fähigkeit, sich Spuren von Stickstoff dienstbar zu machen und die geringe Spezialisierung gegenüber den Stickstoffquellen (verschiedene Stufen des Eiweißabbaus: Pepton selbst, Aminosäuren, Harnstoff, Ammoniak) sind wertvolle Eigenschaften, die auch für die Symbiose von Bedeutung sein können.

C. Die pilzfreie Pflanze.

Zum Schluß sei noch über meine Versuche mit pilzfreier *Liparis* kurz berichtet, wenn diese auch noch kein abschließendes Urteil zulassen. Als ich die Pilzfreiheit der jungen Knospe und der Reserveknolle festgestellt hatte, kam mir der Gedanke, es müßte durch rechtzeitige Abtrennung der verpilzten Teile möglich sein, die Neuinfektion im Frühjahr auszuschließen und so zu pilzfreien Pflanzen zu gelangen. Solche pilzfreie Orchideen wären für die Beurteilung der Notwendigkeit und Bedeutung des Pilzes von hohem Wert. Dabei mußte man sich natürlich vor Augen halten, daß ein Erfolg im ersten Jahr noch nichts gegen die Notwendigkeit des Pilzes beweise, da ja das Reservematerial der Knolle noch von der verpilzten Pflanze gespeichert und auch die Knospe noch auf ihr in allen Einzelheiten ausgebildet wurde, so daß beinahe nur das Wasser zur Streckung der fertigen Anlagen fehlt.

Wegen der Unsicherheit des Ergebnisses verwandte ich für den ersten Versuch bloß 12 Pflanzen. (Ausgeführt am 24. I. 1921.) Ich entfernte die Blatthüllen von der Knolle, zog namentlich das innerste zarte Häutchen sorgfältig ab und trennte die Grundachse knapp an der erwähnten Trennungsschicht mit sterilem Rasiermesser ab. Die nackten Knollen (eine Wattehülle bei wenigen Knollen bewährte sich nicht, da sie schimmelte und erwies sich auch als überflüssig) mit den anliegenden Knospen gab ich in Petrischalen mit sterilem Torfmoos und begoß nun reichlich. Schon innerhalb einer Woche begann sich von zwei Pflanzen die Knospe zu strecken, im Laufe von drei Wochen folgten alle übrigen. Am 28. Februar mußten die Deckel abgehoben werden und die Schalen wurden nun in staubdichten Glashäuschen im Experimentierraum des Gewächshauses aufgestellt. Mitte April, als die Topfpflanzen eben die ersten Knospen hervorstreckten, waren die pilzfreien Pflanzen unter den günstigen Feuchtigkeitsbedingungen schon einige Zentimeter hoch.

Ende April opferte ich eine Pflanze für die anatomische Untersuchung. Sie erwies sich tatsächlich als ganz pilzfrei. Ich wagte kaum meinen Augen zu trauen, als ich dieselbe Grundachse, die ich bisher an ungezählten Schnitten immer mit dichten Hyphenknäueln erfüllt gesehen hatte, pilzfrei, reichlich mit Stärke gefüllt und mit verhältnismäßig kleinen Zellkernen fand. Sie zeigte, von der Größe der Zellen abgesehen, ganz die Verhältnisse der Anlage. Die bezeichnenden Veränderungen, die der Pilz in den Zellen hervorruft, waren unterblieben.

Anfang Mai folgte aber rasch ein auffallendes Zurückbleiben. Ein paar ganz kleine Pflänzchen waren schon im April eingegangen, ohne daß ich damals beim guten Gedeihen der übrigen besonders darauf geachtet hätte. In der ersten Hälfte Mai begannen aber

auch die kräftigsten Pflanzen vom Blattgrunde her zu bleichen und die Blätter brachen dann an dieser Stelle. Als Mitte Mai drei verpilzte Pflanzen zur Blüte kamen, waren die pilzfreien im Wachstum zurück. Bei einzelnen Pflanzen ist die Möglichkeit nicht zu bestreiten, daß sie äußeren Einflüssen erlegen sind; einige schienen durch die Hitze der Pflingsttage geschädigt, andere wurden, allerdings in deutlich geschwächtem Zustand, eine Beute der Schimmelpilze. In allen Fällen scheint aber schon die Tatsache der Schädigung ein Ausdruck mangelnder Widerstandskraft zu sein, denn von den verpilzten Pflanzen ist keine einzige zugrunde gegangen, obwohl ich zur Kontrolle einige gleichfalls in Petrischalen mit Torfmoos verpflanzt und in Glashäuschen neben den pilzfreien aufgestellt hatte. Über den Mai hinweg retteten sich nur zwei Pflanzen, die aber noch heute vollkommen kräftig erscheinen und gute Knollen gebildet haben. Ob man daraus schließen kann, daß die Pflanze durch die Entbehrung des Symbionten nur vorübergehend aus dem Gleichgewicht gebracht wird und, wenn sie die Krise überdauert, sich den neuen Verhältnissen anpassen kann, oder ob nicht vielleicht bei diesen Pflanzen die Isolierung mißlungen oder nachträglich eine Infektion erfolgt ist, bleibt abzuwarten, denn es ist erst im Herbst, nach Ausbildung der Trennungsschicht möglich, die Grundachse auf ihre Pilzfreiheit zu prüfen, ohne die Pflanzen zu opfern. Bis dahin sei auch von einer Erörterung der Befunde abgesehen. Die Möglichkeit einer wenigstens zeitweiligen Lebensfähigkeit ohne den Symbionten würde mit der sonstigen Ursprünglichkeit der Verpilzung gut übereinstimmen.[1]

Ergebnisse.

1. Die Rinde der Grundachse von *Liparis Loeselii* Rich. ist reichlich verpilzt. Die Verpilzung der Wurzeln und Blätter tritt demgegenüber zurück. (Vgl. Goebel Flora 88. Bd. p. 103.)

2. Ein Überwandern des Pilzes aus der alten in die neue Achse findet nicht statt. Diese muß vielmehr alljährlich von neuem infiziert werden. Die Infektion erfolgt durch die älteste Wurzel, die geradewegs in die alte Achse hineinwächst. Durch rechtzeitige Beseitigung der verpilzten Teile gelang es, die Infektion zu verhindern und pilzfreie Pflanzen zu erzielen.

3. Eine Sonderung in Wirt- und Verdauungszellen fehlt. Der Pilz fällt im Laufe der Vegetationsperiode in der Mehrzahl der Zellen der Verdauung anheim.

4. Die Sporenketten des Pilzes finden sich regelmäßig in der Wurzelepidermis und den Blattbasen, selten in Wurzelhaaren.

5. *Liparis* ist selbständig assimilationsfähig. Als Assimilationsprodukt erscheint »rote« Stärke.

---

[1] Im Laufe der ersten Julihälfte gingen auch noch die beiden letzten pilzfreien Pflanzen ein. Die Unentbehrlichkeit des Pilzes auch für die erwachsene Pflanze ist damit erwiesen.

6. Die Wasserdurchströmung von *Liparis* ist lebhaft. In der Spaltöffnungszahl übertrifft sie die untersuchten heimischen Orchideen bedeutend.

7. Samenkeimung gelang nicht. Dagegen erfolgt reichliche Vermehrung durch Adventivknospen, deren Entwicklungsgeschichte lückenlos verfolgt werden konnte.

8. Die Isolierung des Symbionten bereitet keine Schwierigkeiten. Er gehört zur Sammelgattung *Rhizoctonia repens* Bernard (= Typus *Orcheomyces psychodis* Burgeff) und stimmt in seiner Ernährung mit den bisher untersuchten Orchideenpilzen im wesentlichen überein. Er vermag mit sehr wenig Stickstoff auszukommen, ist den *N*-Quellen gegenüber wenig spezialisiert, assimiliert jedoch atmosphärischen Stickstoff nicht.

Tafelerklärung.

Fig. 1. *Liparis Loeselii*. Längsschnitt, Übersichtsbild. Fünffach vergrößert. k_1 alte, k_2 junge Knolle, a_1 alte, a_2 junge Grundachse, *ak* Vegetationspunkt für eine Adventivknospe.

Fig. 2. Grundachse im Querschnitt. 20 fach vergrößert. Die verpilzte Zone in Fig. 1 und 2 dunkel getont.

Fig. 3. Blattepidermis mit Sporenketten des Orchideenpilzes. 300 fach vergrößert.

Fig. 4. Sporenkette *a* aus dem Blatt, *b* aus der Reinkultur. 600 fach vergrößert.

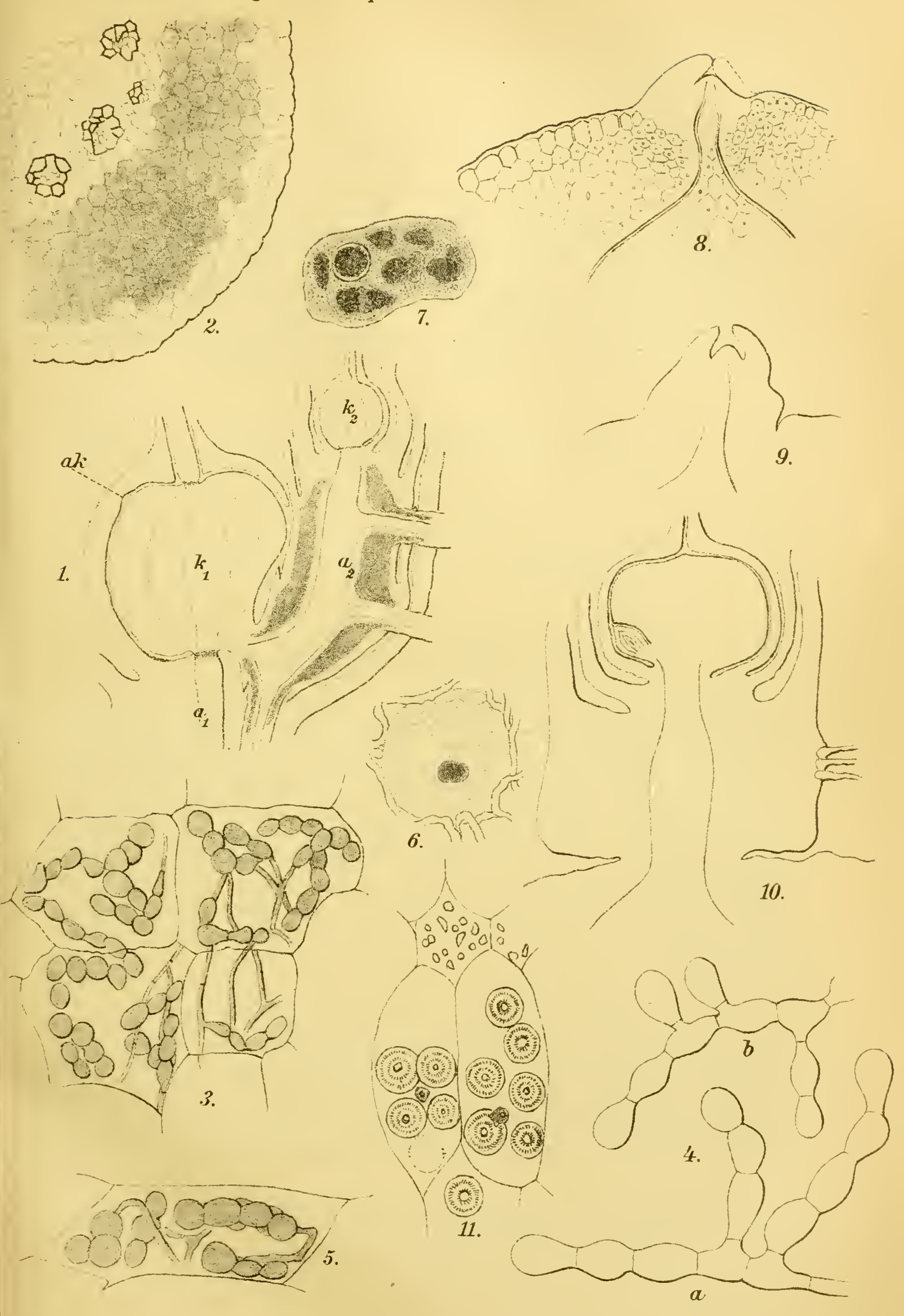
Fig. 5. Wurzelepidermiszelle mit Sporenketten. 350 fach vergrößert.

Fig. 6. Kern aus einer frisch verpilzten Zelle.

Fig. 7. Kern aus einer länger verpilzten Zelle.

Fig. 8 bis 10. Entwicklungsgeschichte der Adventivknospe. Alle Stadien pilzfrei. Im Stadium 10 (30 fach vergrößert) erfolgt die Infektion.

Fig. 11. Ungewöhnliche Stärkekörner aus einer Knolle.


2.
7.
8.
9.
ak
k1
k2
a1
a2
1.
10.
3.
6.
11.
4.
b
a
5.